

## NUEVOS SENsoRES Y BIOSENsoRES APlicados A CONTAMINANTES EMERGENTES Y OTROS ANALITos DE INTERÉS

Palacios-Santander. JM, López-Iglesias. D, García-Guzmán. JL, Cubillana-Aguilera. L, Bellido-Milla. D.

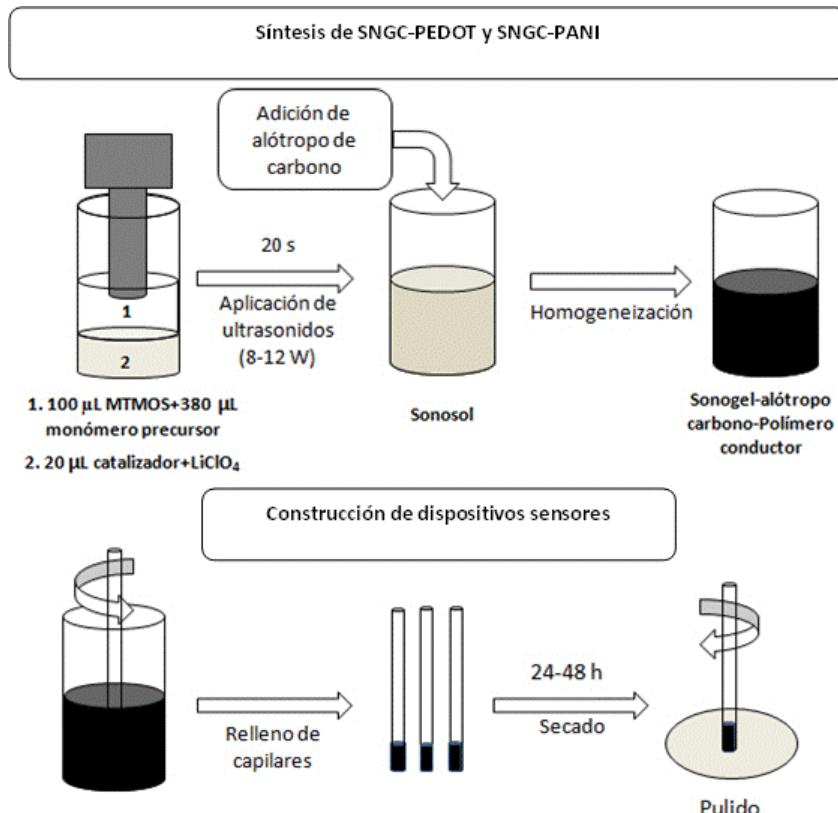
Equipo de investigación 'Instrumentación y Ciencias Ambientales', Instituto IMEYMAT, Universidad de Cádiz.

Los sensores químicos son dispositivos, generalmente, de pequeño tamaño que sirven para detectar y cuantificar sustancias químicas. Por tanto, son herramientas empleadas en el análisis, al igual que otros instrumentos mucho más complejos, como los cromatógrafos o los espectrofotómetros. La ventaja que presentan los sensores, sobre todo los de tipo electroquímico, es que suelen fabricarse con bajo coste, no se requiere un personal cualificado para su uso, ofrecen respuesta rápida y casi en tiempo real y son portátiles, pudiendo utilizarse para llevar a cabo medidas *in situ*, es decir, en el propio lugar donde se requiere realizar el análisis. Su principal mecanismo de funcionamiento para detectar la sustancia de interés (analito) se basa en una reacción química que, en el caso de los sensores electroquímicos, consiste en una reacción de oxidación o reducción de la especie química mediante el empleo de corrientes eléctricas. De este modo, la magnitud de la señal eléctrica obte-

nida será directamente proporcional a la concentración del analito en el medio de medida.

Por otra parte, los biosensores son un tipo específico de sensores químicos que se caracterizan porque la parte receptora está formada por una biomolécula como, por ejemplo, una proteína, una cadena de oligonucleótidos, una enzima, un anticuerpo, una célula o microorganismo o incluso un tejido. La principal ventaja que presentan los biosensores frente a los sensores es su alta especificidad y selectividad frente al analito de interés, gracias sobre todo a la enorme complementariedad entre biomolécula receptora y analito, hecho que redonda en una mejora en algunos parámetros analíticos de calidad como la sensibilidad y el límite de detección.

En nuestro grupo de investigación, llevamos muchos años



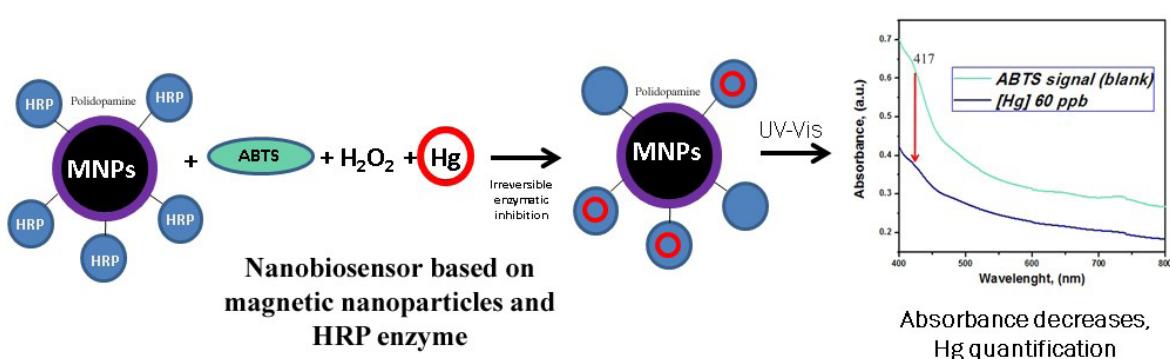
**Figura 1.** Esquema general de fabricación de un dispositivo sensor basado en el material Sonogel-Carbono polímero conductor; poli-(3,4-etilendioxitofeno) (PEDOT) y polianilina (PANI).

*“el nuevo material evita la degradación, ya que el polímero se encuentra en la estructura interna del material, por lo que con un pulido suave se puede renovar su superficie de manera sencilla”*

diseñando sensores y biosensores químicos, principalmente de tipo electroquímico. Por ejemplo, uno de nuestros últimos logros se basa en el desarrollo de sensores basados en el material Sonogel-Carbono y polímeros conductores (SNGC-PC), concretamente, el poli-(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT). Este material está compuesto por una red de óxido de silicio, con grupos metilos hidrofóbicos, y el citado polímero conductor, el cual incrementa de forma considerable la conductividad del dispositivo (hasta un 50%). Además, presenta algunas ventajas frente a otros materiales de electrodo comerciales (Au, Pt o C) recubiertos en su superficie con películas de este polímero conductor (la forma más típica de uso en la bibliografía), siendo la principal de ellas, el evitar el procedimiento de degradación o envenenamiento típico que sufren dichas películas de polímero tras varias medidas sucesivas del analito. El nuevo material SNGC-PC evita esta degradación, ya que el polímero se encuentra en la estructura interna del material (otorgándole estabilidad adicional) y no en el exterior, por lo que con un pulido suave se puede renovar su superficie de manera rápida y sencilla, aumentando su tiempo de vida y disponiendo de un nuevo electrodo en segundos, y con una durabilidad y robustez multiplicadas por 20 respecto al sensor basado en una película de polímero conductor en su superficie. El diseño y fabricación de este dispositivo se ha llevado a cabo mediante ultrasonidos de alta energía, tecnología verde y simple que reduce drásticamente los tiempos de síntesis y ahorra mucha energía y, además, ha estado asistido por diseño de experimentos, herramienta estadística empleada para optimizar los valores de los parámetros de síntesis más importantes. Así, el nuevo material reduce al mínimo la cantidad de silano precursor y maximiza la de polímero conductor. El sensor SNGC-PC ha demostrado con éxito su utilidad en el análisis de muestras farmacológicas y biológicas. Más aún, hasta donde nosotros conocemos, se trata del primer dispositivo sensor que contiene polímero conductor como un componente importante y fundamental

del material, con funciones no sólo estructurales, sino también electrocatalítica y de transferencia de carga. Los resultados relativos al diseño, optimización, caracterización electroquímica y estructural, así como la aplicación de este novedoso dispositivo sensor se han publicado en la revista científica de alto impacto internacional indexada en JCR: Journal of the Electrochemical Society, en la categoría Materials Science, Coatings and Films (4/20), con un factor de impacto de 3,120 (2018); doi:10.1149/2.1021816jes. Este material se ha empleado también, recientemente, para el establecimiento de un procedimiento electroquímico que permita la determinación rápida y fiable de cannabidiol y cannabinol, ambos derivados no psicoactivos del tetrahidrocannabinol, y cuya publicación se prevé en breve. Dicha metodología es bastante novedosa para la determinación de este tipo de cannabinoides. Actualmente, también se están llevando a cabo estudios sobre un nuevo material SNGC-PC a base de otro polímero conductor, la polianilina. Este nuevo sensor está demostrando una gran aplicabilidad en la determinación de contaminantes polifenólicos orgánicos, como el 4-cloro-3-metilfenol, permitiendo su detección a valores de concentración más bajos que los publicados hasta ahora en la bibliografía (también se prevé su publicación en breve).

Por otra parte, nuestro grupo de investigación también ha desarrollado una nueva metodología para la fabricación de dispositivos biosensores basada en la aplicación de corrientes y voltajes sinusoidales para polimerizar el PEDOT e inmovilizar, al mismo tiempo en su matriz, la enzima tirosinasa, con vistas a analizar cervezas y vinos. La superficie generada PC/enzima mediante esta metodología está nanoestructurada, según estudios de microscopía de fuerza atómica. El biosensor se utilizó para la obtención de un índice de polifenoles y la capacidad antioxidante de diversas muestras de vinos (tres tintos y uno blanco) y cervezas (cuatro lager, tres stout y dos sin alcohol) comer-



**Figura 1.** Esquema del funcionamiento de un nanobiosensor basado en nanopartículas magnéticas, recubiertas de polidopamina y con HRP inmovilizada en su superficie, para la detección de Hg mediante espectrofotometría ultravioleta/visible a través de un proceso de inhibición de la actividad enzimática.

*“hemos desarrollado recientemente un sensor químico basado en nanopartículas de oro obtenidas de manera respetuosa con el medio ambiente para determinar aminotioles”*

ciales, obteniéndose una muy buena correlación entre los resultados del biosensor y el método espectrofotométrico basado en el radical ABTS, que es el que se emplea comúnmente como referencia. Dicho estudio se ha publicado en la revista científica Open Access de alto impacto indexada en JCR: Sensors, primer cuartil en la categoría Instruments & Instrumentation (15/61), con un factor de impacto de 3,031 (2018): DOI: doi:10.3390/s19010066. Los orígenes de estos estudios se recogen también en el capítulo de libro: ‘Electrochemical Biosensors for Antioxidants’, que forma parte del libro titulado: ‘Advanced Biosensors for Health Care Applications’, publicado por la editorial Elsevier en 2019: <https://doi.org/10.1016/C2017-0-02661-7>.

En la misma línea de la síntesis verde y ecológica de materiales mediante ultrasonidos de alta energía, también hemos desarrollado recientemente un sensor químico basado en nanopartículas de oro (AuNPs) obtenidas de manera respetuosa con el medio ambiente. Dichas nanopartículas, predominantemente esféricas y con un tamaño de  $9 \pm 2$  nm ( $>87\%$  de las AuNPs con un tamaño entre 5 y 12 nm), se depositaron sobre electrodos serigrafiados de oro para determinar aminotioles (conjunto de sustancias antioxidantes que sirven para reducir el estrés oxidativo, contrarrestando el efecto negativo de radicales libres). Los aminotioles investigados fueron: cisteína, metionina, glutatión y homocisteína. El funcionamiento de las AuNPs en el electrodo se comparó con el de otro nanomaterial (nanotubos de carbono de pared múltiple), obteniéndose mejores resultados para las AuNPs en términos de parámetros analíticos de calidad: sensibilidad, reproducibilidad, repetibilidad, intervalo lineal y límite de detección. Los dispositivos sensores modificados con las AuNPs se aplicaron con éxito a la determinación de cisteína y metionina en suplementos dietéticos mediante cromatografía líquida con detección amperométrica. Los resultados del presente trabajo se publicaron también en una revista científica de alto impacto indexada en JCR: Journal of Electroanalytical Chemistry, primer cuartil en la categoría Chemistry,

Analytical (19/84), con un factor de impacto de 3,218 (2018): <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.05.066>.

Finalmente, cabe destacar que nuestro grupo de investigación, asimismo, ha desarrollado algunos sensores o biosensores de tipo óptico. Es el caso de un biosensor para mercurio basado en la inmovilización de enzima peroxidasa de rábano picante (HRP) sobre la superficie de nanopartículas magnéticas recubiertas con polidopamina. Una ventaja que presenta este biosensor es que está basado en nanopartículas magnéticas sintetizadas en un solo minuto mediante el empleo de ultrasonidos de alta energía. Hasta ahora, y según la bibliografía, se trata del proceso de síntesis de este tipo de nanopartículas más rápido jamás empleado hasta la fecha. Además, dicha síntesis está asistida también por diseño de experimentos, lo que nos ha permitido optimizar el proceso y obtener nanopartículas magnéticas de óxido de hierro con un tamaño de  $10 \pm 2$  nm. La particularidad de este dispositivo radica en que cada nanopartícula magnética se comporta como un nanobiosensor óptico, el cual funciona de la siguiente manera: el mercurio presente en el medio inhibe la actividad enzimática de la HRP inmovilizada sobre la película de polidopamina que recubre la nanopartícula, y dicha variación de la actividad, en función de la concentración de mercurio, puede monitorizarse mediante espectrofotometría ultravioleta/visible, en presencia de ABTS: a mayor concentración de mercurio, menor señal de oxidación del ABTS por la enzima a la longitud de onda de 417 nm. El límite de detección alcanzado para el mercurio con este biosensor es de 4 ppb, muy próximo a las 2 ppb que recomienda la Agencia de Protección Medioambiental de EEUU (USEPA). Dichas nanopartículas también se han empleado con éxito como soporte para el anclaje de anticuerpos, los cuales reaccionan con una línea celular de osteosarcoma que expresa la proteína objetivo (TRIB2-GFP), como parte de un estudio de inmunoprecipitación. Todos estos resultados se prevén publicar en breve en una revista científica de alto impacto.



El Dr. José María Palacios Santander se doctoró en 2003 en la Universidad de Cádiz con una Tesis Doctoral con Mención Internacional y Premio Extraordinario de Doctorado. Obtuvo una beca ‘José Castillejo’ en 2008 y colabora con varios grupos de investigación a nivel nacional e internacional (Marruecos, Italia, Rumanía, Cuba, etc.). Es Profesor Titular de Universidad desde 2017 e IP del grupo de investigación FQM-249: ‘Instrumentación y Ciencias Ambientales’ desde 2018, desempeñando sus labores docentes, de investigación y gestión en el Dpto. de Química Analítica de la Universidad de Cádiz.